

II. ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ФЕНОГЕНЕТИКА

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА ХРОМОСОМЫ ЭУКАРИОТ

А. В. РОДИОНОВ, А. Ф. СМЕРНОВ, М. Г. СМАРАГДОВ

Факторы внешней среды оказывают постоянное влияние на живые системы и их элементы, в том числе и на генетический аппарат. При этом в одних случаях внешний агент может полностью нарушить систему клеточного гомеостаза, в других на внешний агент может реагировать только специальный рецептор. Тогда агент будет играть роль сигнала, а реакция клетки может быть адекватной и иметь адаптивный характер [23].

Под действием факторов внешней среды могут произойти:

- 1) кратковременное обратимое изменение функциональной активности генетического аппарата,
- 2) долгоживущее эпигеномное изменение,
- 3) мутация,
- 4) необратимое разрушение генетического аппарата.

Не все указанные изменения исследуются с равной интенсивностью. Наибольшее внимание в последние годы уделяется мутагенности факторов внешней среды [см.: 8, 37]. В то же время изучению индукции эпигеномных изменений при действии факторов внешней среды уделяется сравнительно мало внимания, что отчасти связано с серьезными методическими трудностями в идентификации эпигеномных изменений [4, 18].

Значение обратимых функциональных изменений в ответ на действие внешнего индуктора нет необходимости доказывать. Достаточно указать на индукцию интерферона при попадании вируса в клетку и индукцию цитохром-Р-450-опосредованных монооксидазных активностей при проникновении в клетку химического агента [64].

Рассматривая влияние внешней среды на хромосомы, мы ограничили свое внимание небиологическими факторами внешней среды и лишь несколькими, наиболее хорошо изученными системами.

ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА

Уникальным объектом, позволяющим детально исследовать изменения функциональной активности генома при изменении экологических условий, являются политенные хромосомы двукрылых. Тщательное исследование, проведенное на личинках хирономид, показало, что характер пуффирования и общая морфология политенных хромосом двукры-

ных в разные сезоны года существенно различаются. Летом хромосомы имеют многочисленные пuffed и четкий рисунок дисков. В осенне-весенний период, когда температура воды достаточно высока, хромосомы сильно укорочены, четкая дисковая структура нарушается, большинство мелких пuffed исчезает, многие диски сливаются. Сохранившиеся немногочисленные пuffed однородны и наблюдаются у всех личинок практически во всех ядрах. Поздней осенью хромосомы также достаточно компактны, но в ряде районов развиваются специфические пuffed. В зимний период развиваются многочисленные мелкие пuffed, появляется четкая дисковая структура. При повышении температуры воды постепенно развиваются типичные для лета пuffed [10].

Значительные изменения в активности пuffed наблюдаются и при различных экспериментальных воздействиях. Молекулярно-генетические механизмы клеточного ответа на действие факторов внешней среды исследуются в настоящее время на примере так называемых hs-пuffed у дрозофилы.

Если личинки дрозофилы, развивающиеся обычно при 25°C, поместить в 37°C, то в нескольких специфических участках полигенных хромосом в течение нескольких минут формируются пuffed. При перенесении личинки в 25°C нормальная цитологическая картина восстанавливается [33]. Изменение картины пuffed коррелирует с индукцией синтеза рРНК в этих районах [36] и изменениями в структуре хроматина активированных районов [82]. Индукция пuffed сопровождается подавлением транскрипционной активности других районов хромосом [33]. Наблюдается миграция РНК-полимеразы II в районы hs-пuffed и, наоборот, освобождение ее из всех прочих районов хромосом [47]. В этот период в клетке транскрибируется лишь hs-ДНК, а также ДНК гистоновых и митохондриальных генов [33]. Процессинг предварительно (до шока) транскрибированной рРНК нарушен [43, 69]. Показано, что у *Drosophila melanogaster* происходит быстрое разрушение всех «дошочковых» полисом [60]. Деградация полисом не связана с разрушением рРНК, по крайней мере часть из них может быть выделена и транскрибирована [33].

При температуре 37°C на полисомах *D. melanogaster* во всех исследованных тканях синтезируется 8 полипептидов (hs-протеины). Первые их молекулы регистрируются через 10 мин, а через 6—8 ч до 10% общеядерного белка представлено hs-протеинами [33].

Hs-пuffed можно индуцировать не только тепловым шоком, но и самыми разнообразными агентами, среди которых ингибиторы транспорта электронов, акцепторы водорода, ингибиторы различных ферментов [32, 33]. Различные внешние факторы не обязательно индуцируют весь спектр hs-пuffed, при этом могут быть активизированы и отдельные районы, инертные при тепловом шоке [32].

Ряд фактов свидетельствует о существовании цитоплазматического индуктора активности пuffed. Так, hs-пuffed можно индуцировать цитоплазмой желтых, подвергнутых тепловому шоку [33]. Таким индуктором, переходящим при нарушении клеточного гомеостаза в активированное состояние, может быть продукт локуса 1(1)ts-403 [45].

Решение вопроса о функциях индуцируемой активности затруднено межвидовыми различиями. В отличие от *D. melanogaster* у *D. virilis* часть прешоковых пuffed не инактивируется [20]; у *D. hydei* синтез hs-протеинов, возможно, не координирован и полисомы не разрушаются [33, 60]. Межвидовые различия могут быть связаны с тем, что стандартная температура теплового шока 37°C не является критической для исследованных видов. Подтверждением этому может служить индивидуальная вариабельность чувствительности к действию шока у

особей *D. virilis*, а также зависимость индукции от условий содержания личинок [20].

Можно думать, что индукция *hs*-пуффлов есть отражение начальных этапов клеточной деградации. Однако быстрая гибель личинок при тепловом шоке, если незадолго до повышения температуры им ввести актиномицин-Д [45], ставит вопрос об адаптивности *hs*-индукции. К сожалению, до сих пор не известно, имеют ли *hs*-протени ферментативную активность. Возможно, их функция связана с компенсацией кислородного голодания, развивающегося в клетках в условиях высоких температур [45]. Однако, нам кажется, можно допустить, что основная функция *hs*-протенинов — это подавление всех клеточных синтезов. В субоптимальных условиях высока вероятность существенного нарушения некоторых реакций, что приведет к дисбалансу в системе обще клеточного метаболизма и (или) к избыточной полнвариантности матричных процессов [см.: 11]. В таких условиях выгоднее одновременное полное прекращение транскрипции, трансляции и, возможно, других химических процессов. Постоянное обновление пула митохондриальных и гистоновых иРНК может быть необходимо для элементарного поддержания жизни или процессов восстановления нормальной жизнедеятельности при нормализации условий. Скорость ответа обеспечивается быстрым освобождением РНК полимераз и разрушением полисом. Протекающий одновременно во всех тканях процесс необходим для перехода организма в состояние физиологического анабиоза, обеспечивающего кратковременное нахождение в экстремальных условиях. Таким образом, синтез *hs*-протенинов может представлять универсальную адаптивную реакцию в ответ на сублетальное действие факторов внешней среды.

Существуют и другие примеры специфического ответа генетического аппарата эукариот на внешние воздействия. Давно известно, что холодовая обработка растений приводит к деконденсации гетерохроматиновых районов хромосом. Зоны деконденсации называют *h*-сегментами [71]. Интенсивность температурного воздействия, необходимого для деконденсации, видоспецифична и, возможно, связана с экологией вида. Так, для выявления *h*-сегментов у пшеницы достаточно 4-дневного выдерживания материала при 0—6°C [71], а для подснежника *Scilla sibirica* требуется месячное воздействие температурой —12°C [35]. У водного растения *Najas marina* деконденсация происходит спонтанно, возможно, за счет суточных колебаний температур [80]. После перенесения растений в нормальные температурные условия нормальная конденсация *h*-сегментов восстанавливается в течение нескольких часов [81]. Установлено, что при холодовой обработке происходит именно деконденсация гетерохроматиновых районов, а не блокада конденсации, так как на воздействие реагируют уже конденсированные хромосомы [7].

В цитогенетике давно укоренилось мнение, что состояние конденсации—деконденсации хроматина тесно связано с интенсивностью транскрипции данного района. Предполагается [7, 80], что при деконденсации гетерохроматина происходит активная транскрипция гетерохроматиновых генов, необходимая для переживания жестких условий, однако пока это предположение экспериментально не проверялось. Интересно, что до сих пор деконденсация гетерохроматина при холодовой обработке не обнаружена у теплокровных животных. Кроме растений она наблюдалась в хромосомах тритонов [70].

Рассмотренные феномены представляют собой изменение активности генома в экстремальных условиях, но на адекватные физиологические ответы генетический аппарат способен и в «повседневной жизни».

Проникновение в клетку чужеродных химических соединений происходит постоянно. При этом закономерно индуцируются цитохром-Р-450-зависимые монооксигеназные активности [64, 65]. Цитохром-Р-450-зависимые монооксигеназы — это связанный с мембраной мультиферментный комплекс, метаболизирующий полициклические углеводороды, такие, как бензо-а-пирен, 3-метилхолантрен, многие ароматические амины, антибиотики, гормоны и др. [64]. В регуляцию процессов индукции цитохрома у мышей включены аллели нескольких локусов. Детально исследован локус Ah [64, 65]. Продукт локуса Ah является цитоплазматическим рецептором полициклических ароматических углеводородов и постоянно присутствует в цитоплазме. Химический агент, попав в цитоплазму, связывается с рецептором, и комплекс агент—рецептор транспортируется в ядро. Начинают синтезироваться комплекс-специфическая иРНК и транслироваться соответствующие белки. Вновь синтезированный цитохром включается в эндоплазматическую сеть и начинаются процессы метаболических превращений чужеродного химического соединения [65].

Важнейшим для понимания механизмов адаптивного ответа клетки является решение вопроса о специфичности цитохром-Р-450-монооксигеназных комплексов. Из результатов многочисленных экспериментов по индукции цитохром-Р-450-монооксигеназных активностей различными агентами следует, что клетки способны синтезировать разнообразные формы цитохрома. Возможно, специфический цитохром формируется в ответ на проникновение определенного химического соединения [64]. Каким образом обеспечивается такое разнообразие? Современная молекулярная биология предоставляет обильный материал для спекуляций о способах возникновения полиморфизма, степень которого была бы достаточна для обеспечения специфичности ответа. Упомянем сайтспецифическую соматическую рекомбинацию [72], сплайсинг [30], существование высокомутабильных локусов, транспозонов и систем, им подобных [39]. Возможно, не все клетки в ткани способны формировать оптимальный цитохром, необходимый для разрушения данного соединения, а лишь часть из них [64]. В этом случае было бы естественным ожидать развития систем метаболической кооперации индуцированной монооксигеназной активности.

ИНДУЦИРОВАННАЯ ЭПИГЕНОМНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ

Эпигеномные изменения, представляющие собой наследуемые изменения генной активности, могут играть и, по-видимому, играют существенную роль в адекватном ответе клетки на действие факторов внешней среды. Обусловлено это тем, что эпигеномные состояния клетки более зависимы от внешних условий и при определенных условиях могут быть гораздо более массовыми и однонаправленными, чем мутации [63].

Примером длительных изменений может служить явление длительных модификаций, открытое Иоллосом на *Paramecium* [52]. Иоллос показал, что возникающая под влиянием среды устойчивость к повышенной температуре или содержанию в среде As_2O_3 после прекращения действия индуцирующего фактора сохраняется, лишь постепенно затухая в последующих поколениях. Половой процесс (конъюгация и автогамия) обычно, но не всегда, снимает длительную модификацию [9, 52]. Так как при половом процессе происходит разрушение макронуклеуса и формирование нового, Иоллос связывает длительные модификации с изменениями макронуклеуса [52].

Результаты длительных модификаций у простейших была подтвер-

ждена позднее на клональном материале [9, 14, 21]. Генетический анализ показал, что поддержание модифицированного состояния по признаку «повышенная термостойчивость» связано с цитоплазматическими детерминантами, природа которых неизвестна [14], по которым, как предполагают, определяют соответствующее эпигеномное состояние ядра [14]. В других случаях (например, длительная модификация по устойчивости к CaCl_2) поддержание приобретенного изменения определяется непосредственно самим ядром [9]. Женеермон [9] предполагает, что длительные модификации у инфузорий не являются собственно эпигеномными изменениями, а есть результат селекции, материалом для которой служит внутриклеточная гетерогенность макронуклеусов, возникающая за счет «незаконной» внутриклеточной конъюгации. Однако, по данным Осипова [19], даже сестринские кариониды могут сильно (вдвое и более) различаться по термостойчивости, несмотря на то, что их цитоплазма и генотип идентичны. По крайней мере в данном случае различия по термостойчивости связаны с эпигеномной изменчивостью.

Реализация программы развития организма может быть модифицирована факторами среды. Особенно наглядно это видно у микроорганизмов и простейших. Переключение программы развития с митоза на мейоз при изменении условий существования, явления инцистирования широко известны. Влияние внешней среды на реализацию программы развития у высших эукариот до сих пор оценено недостаточно. Между тем, как отмечал Ю. М. Оленов [18], во всех классических примерах явления «нормы реакции» (например, изменение окраски шерсти у кроликов некоторых пород в зависимости от температуры) речь, в сущности, идет о эпигеномной изменчивости некоторых тканевых элементов.

Влияние температуры на процессы детерминации и дифференцировки органов и тканей исследуется на примере гомеозисных генов дрозофилы. Если в определенный, температурочувствительный период (ТЧП) поднять температуру развития до 29°C , то это ингибирует проявление мутации генов ss^d , tel , opt . Понижение температуры развития до 17°C способствует реализации мутантного фенотипа. Мутация гена bx^d , наоборот, проявляется лучше при 29°C . Развитие мух линии $pro-dosciordia$ при 15°C ведет к формированию на месте хоботка антенно-подобного, а при 29°C — ногоподобного выроста [6]. Так как гомеозисные гены, вероятно, являются генами-регуляторами, определяющими эпигеномное состояние и, соответственно, морфогенетическую судьбу клеток, понимание того, каким образом внешние факторы могут модифицировать их проявление, должно пролить свет на общие механизмы индуцированной эпигеномной изменчивости.

Считается, что термочувствительность гомеозисных мутаций связана с тем, что они продуцируют термолabile белки [6, 17]. Однако активность генов bx и ep при клональном анализе удается выявить уже в 1-м личиночном возрасте, а ТЧП для мутации bx приходится на конец 2-го, а для мутации ep на конец 3-го возраста. Эти и другие данные показывают, что ТЧП по времени гораздо короче периода активности гомеозисного гена. Что отражает ТЧП — пока не известно [17].

Аналогичная проблема встает при попытке понять причины обуславливающего существование фенокритического периода (ФКП). Если эмбрион на стадии бластомеры облучить нейтронами, подвергнуть тепловому шоку или обработать эфиром, то у имаго вместо передней половины галер и метоторакса развивается передняя половина крыла и метоторакса (фенокопия мутации bx). Облучение личинок на стадии 3-го возраста рентгеновыми лучами, обработка азотистым ипритом или соединениями бора ведет к развитию элементов тарзуса вместо аристы [17]. ФКП часто совпадает, но может и не совпадать с ТЧП и с перио-

дом регистрируемой разными методами активности генов [6, 17]. Фактически индукция фенкопин есть индукция дифференцировки неспецифическим агентом. Аналогичный феномен наблюдается и при обработке мутагенами клеток в культуре, особенно когда мутаген используется в наивысших приемлемых для клеток концентрациях [4, 73]. Складывается впечатление, что введение в геном хромосомных и генных aberrаций не только не препятствует, а способствует дифференциации, что можно было бы ожидать, если бы в детерминированных клетках действовал достаточно сложный механизм, препятствующий их переходу в дифференцированное состояние [4].

Возможность направленного эпигеномного изменения под действием температуры наблюдается при мозаичном эффекте положения. Перенесение гена из эухроматина в гетерохроматин переводит этот ген в функционально нестабильное состояние. В некоторых участках ткани ген работает, в других — нет [3, 78]. Понижение температуры способствует инактивации и усиливает мозаичность, повышение ее дает обратный эффект [78]. Проявление разных генов и одного и того же гена, но в разных перестройках различно модифицируется действием температуры [27, 49].

Фенотипический мозаицизм тканей при мозаичном эффекте положения имеет клональную природу и, как правило, закладывается на ранних этапах эмбрионального развития [34]. Особенно интересно наблюдаемое при этом изменение структуры хромосомы: перенесенный в гетерохроматиновый район участок эухроматина полнотенной хромосомы гетерохроматинизируется, т. е. теряет четкую структуру дисков, недоренализируется и значительно снижает интенсивность транскрипции [31]. Пуффы в этих районах исчезают, что также свидетельствует об инактивации затронутого района [31, 49]. Наблюдается нарушение спайнса гомологов [46]. Отмечено также увеличение диаметра хромосом, по-видимому, не сопровождающееся увеличением количества ДНК в них [50].

О сложности механизмов влияния внешней среды на хромосомы свидетельствует обнаруженный «материнский эффект» температуры на эффект положения. Низкая температура (16°C) при развитии родительских самок примерно вдвое усиливает проявление эффекта положения гена *white* в *Dp* (1; 3)*w^{co}* у потомства. В то же время температура, при которой развивались самцы, не влияла на мозаичность у потомства. Температура, при которой развивались самки, влияла на эффект положения даже тогда, когда перестройка с геном приходила от отца, т. е. непосредственно не подвергалась действию температуры. Существенно, что в этом случае проявление эффекта положения было все-таки ослабленным [27].

Можно предположить, что существуют два механизма влияния температуры на эффект положения: через воздействие на перестроенную хромосому с геном, проявляющим эффект положения, а также через влияние на другие хромосомы и (или) цитоплазматические компоненты яйцеклетки [27].

Складывается впечатление, что модификация структуры хроматина в спермиогенезе [44] нарушает эпигеномную детерминацию степени активности гена. Это подтверждают и исследования модификации эпигенетической активности генов температурным шоком, проведенные Н. Г. Светловым и Г. Ф. Корсаковой [24]. Действуя температурным шоком (30°C) на эмбрионы и личинки *D. melanogaster* линии *forked* во время критических периодов развития, можно значительно изменить проявление гена. При этом изменение экспрессивности мутации *forked* наследуется по крайней мере в течение 53 поколений,

но только в случае, если экспериментальному воздействию подвергался материнский организм [24]. Наблюдаемый феномен является типичным примером длительной модификации или наследуемого эпигеномного состояния, проходящего через мейоз.

Явление эпигеномного наследования, возможно, широко распространено в природе. Д. К. Беляев с соавторами [1, 2] показали, что гены S у лисиц и F_u у мышей могут наследоваться как в активном, так и в инактивированном состоянии. Предполагается связь инактивации генов с явлением гетерохроматинизации. Косвенным свидетельством в пользу этого предположения могут быть результаты С. И. Раджабли [22]. Оказывается, иногда хромосомы животных, происходящих от одного предка, имеют идентичную картину G-блоков, но различаются по C-гетерохроматину.

Зависимость гетерохроматинизации от условий существования показана для орхидеи *Spiranthes sinensis*. Растения из северных районов Японии имеют больше гетерохроматинизированных районов, чем растения из южных популяций. Растения из холодных болот и менее рослые также достоверно чаще имеют гетерохроматинизированные районы по сравнению с растениями тепловодными и высокими. Возможно, здесь гетерохроматинизация связана с инактивацией генов или серий генов, обеспечивающих рост [79].

Зависимость гетерохроматинизации от условий существования, прежде всего температуры, бесспорна. По-видимому и частота актов активации/инактивации генов должна активироваться средой. Интересно, что вероятность активации гена s у лисиц возрастает при одомашнивании животных. Возможно, с этим связан и всплеск изменчивости при доместикации [1, 2].

МУТАЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ

Хорошо известно, что многие экологические факторы: субоптимальная температура [16], длинноволновый УФ и видимый свет [15], многие химические агенты, широко представленные в биосфере [37], являются мутагенами и канцерогенами. Рассмотрению этого аспекта взаимоотношений генетического аппарата и факторов внешней среды посвящено много обзоров, сборников и монографий [8, 37]. Поэтому в данном сообщении мы подчеркнем только некоторые аспекты, отражающие сложные адаптивные ответы на действие внешней среды.

Исследования механизмов устойчивости культур клеток к присутствию химических агентов в культуральной среде показали, что устойчивость обычно обусловлена мутацией генов, ответственных за инактивацию агента или его транспорт в клетку. Однако возможен принципиально иной механизм повышения устойчивости, связанный с мультипликацией генов. При селекции клеток на устойчивость к метотрексату получено несколько линий клеток, во много раз (до нескольких тысяч) более устойчивых к агенту, чем исходный клон. Высокая резистентность связана с 200-кратной мультипликацией гена дегидрофолатредуктазы (ДФР) [74]. Кариологическое исследование показало, что некоторые хромосомы этих линий содержат так называемые гомогенно окрашенные районы (HSR) [38]. Методом гибридизации *in situ* показано, что мультиплицированные гены ДФР локализуются именно в HSR-районах [66]. После перенесения высокорезистентных линий на среду без метотрексата часть клонов теряла устойчивость довольно быстро, другие же стабильно сохраняли состояние резистентности. HSR-районы обнаруживались именно в стабильных клонах; клоны, теряющие резистентность, не имели HSR, но содержали маленькие добавочные хромосомы, называемые double minutes (dms) [75].

Исследование в разной степени резистентных клонов и закономерностей их роста на среде с метотрексатом и без него показало, что исходная популяция клеток гетерогенна по количеству генов ДГФР на гаплондный геном. Однако в норме селективным преимуществом обладают клетки с низким содержанием ДГФР, скорость деления которых выше. На среде с метотрексатом положение меняется [75].

В данном случае мы сталкиваемся с феноменом возрастания надежности клеточной популяции за счет ее гетерогенности. Механизмы поддержания гетерогенности неизвестны; возможно, возрастание количества генов в ряде клеток связано с неравным кроссинговером или с особым механизмом репликации, обеспечивающим мультипликацию последовательности ДНК без выстраивания копий из хромосомы.

Насколько уникально явление мультипликации генов при развитии резистентности к химическим агентам? Оно показано для двух видов животных (хомяк, мышь) и двух агентов (метотрексат и PALA-ингибитор аспартат-транскарбамилазы) [75]. Особый интерес приобретают эти данные в связи с тем, что аналогичные цитологические изменения генома (HSR и dms) обнаруживаются при индуцированных и спонтанных формах рака [56]. Леван с соавторами [58] показали, что в нормальных условиях культивирования *in vivo* в клетках асцитной опухоли SEWA у мышей 90% клеток содержит от одной до тысячи dms. Однако при перенесении клеток опухоли *in vitro* происходило быстрое падение числа dms на клетку. Через 100 дней культивирования лишь 5% клеток содержали dms. Реимплантация клеток *in vivo* вновь вела к накоплению dms. Опыт с этими клетками повторяли три раза с тем же результатом [58]. Таким образом, совершенно очевидно, что dms дают селективное преимущество клеткам, растущим *in vivo*, а *in vitro* селективной функции не имеют. По-видимому, они представляют собой (равно как и HSR) блок мультиплицированных генов и связаны с бластотрансформацией [58].

Исследование поведения dms в митозе показало, что они не имеют центромеры и распределяются при делении клеток случайно, прилипая к «истинным» хромосомам [57]. Нестабильность распределения селективно пенных факторов также является одной из форм механизмов адаптации. Случайное распределение обеспечивает постоянный материал для отбора под влиянием факторов среды. Интересно, что обнаруживаемые иногда в той же опухоли добавочные хромосомы иного вида, имеющие центромеру и гетерохроматинные участки (mi-хромосомы), не элиминируются при культивировании *in vitro* [58]. Дальнейшие исследования показали, что dms, возможно, способны к перестройкам. В одной из линий, где происходило быстрое уменьшение числа dms на клетку, обнаружилось новые необычные хромосомы. Они были метацентрики (все хромосомы нормального карิโอ типа мыши — акроцентрики), не имеющие прицентромерного гетерохроматина и гомогенно окрашиваемые красителем Гимза. Предполагается, что эти хромосомы образуются в результате слияния dms и приобретения ими центромерной активности [59].

Структурой, возможно, близкой dms по природе, но возникшей давно и прошедшей отбор, являются В-хромосомы. Влияние В-хромосом на фенотип особи-носителя не всегда очевидно, однако в ряде случаев показано закономерное изменение их числа. В частности, отмечена вариационность частот встречаемости В-хромосом при различных экспериментальных воздействиях (изменение влажности, состав почвы и др.) на рожд и изменение числа В-хромосом в популяциях саранчевых, подверженных интенсивному антропогенному воздействию [5]. В-хромосомы кузнечика *Mirmaleotettix maculatus* замедляют

развитие насекомого-носителя, и это может быть существенным элементом приспособления особи (популяции) к температурным условиям существования [51]. В отличие от вновь возникающей системы *dm5* В-хромосомы, по-видимому, давно сложившаяся и существенно усложнившаяся в процессе эволюции система. Полиморфизм по числу В-хромосом как на клеточном, так и на организменном уровне [5, 53] представляет богатый материал для отбора. Он обеспечивается неравным распределением В-хромосом в митозе и мейозе, при этом степень неоднозначности и стадия осуществления потенциального неравного деления находятся под строгим генетическим контролем [53].

Если селективная ценность полиморфизма на организменном уровне хорошо аргументирована, то этого нельзя сказать о межклеточном полиморфизме. Достаточно четко наличие межклеточной конкуренции показано в экспериментах с клонами, несущими мутацию *minute* у *D. melanogaster* [61]. Если в гетерозиготном по этой мутации клоне произойдет соматический кроссинговер, то возникшие в результате кроссинговера гомозиготные по нормальной аллели клоны вытесняют *minute* клоны и могут самостоятельно сформировать весь компартмент. Физиологическое состояние организма влияет на относительную селективную ценность клонов. Так, голодание спасает *minute* клоны [77].

НЕОБРАТИМОЕ РАЗРУШЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА

В клеточных популяциях действует постоянный стабилизирующий отбор. Клетки, несущие избыточное количество спонтанных или индуцированных хромосомных aberrаций и мутаций элиминируются. Продолжительность жизни клетки с хромосомной aberrацией, возникшей *de novo*, как правило, не превышает нескольких делений [55]. Аберрантные X-хромосомы гетерохроматинизируются и таким образом исключаются из системы работающих генов [45]. Процесс разрушения клеток детально описан. Сначала увеличивается плотность цитоплазмы, происходит гетерохроматинизация эухроматина и концентрация гетерохроматиновых масс у ядерной мембраны. Постепенно нарушаются межклеточные контакты, и дегенерировавшая клетка фагоцитируется соседними клетками [26, 67]. Процесс дегенерации клеток происходит в развивающемся организме постоянно и может быть связан не только с элиминацией клеток, перегруженных геномными и внегеномными аномалиями, но и с нормальными морфогенетическими процессами [17, 67].

ФАКТОРЫ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ КАК СИГНАЛЫ К СМЕНЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРОГРАММЫ

Существование живых систем в постоянном контакте с окружающей средой необходимо приводит к повышению устойчивости генетического аппарата к действию факторов, широко представленных в биосфере [76]. Устойчивость может быть физическая и физиологическая. Отделение генетического аппарата от цитоплазмы — зоны интенсивного метаболизма — ядерной мембраной, повышение структурной стабильности хромосомы за счет белков служат примерами возрастания физиологической устойчивости. Физиологическая устойчивость обеспечивается системами метаболической активации, достижением необходимой надежности факторов программирования [11, 28] и развитием механизмов адекватного ответа на внешнее воздействие.

Рассмотрим (вслед за Даниелли и Ди Берардино) клетку как систему комплекса программ, представленных генетическим аппаратом, и

систему эффекторов, определяющих, какая программа реализуется в данный момент [41] (схема). Особые механизмы обеспечивают сохранение и воспроизведение данной программы, однако для процессов фило- и онтогенеза необходимо репрограммирование. Изменить программу развития могут факторы внешней среды.

Кратковременное изменение активности генома в ответ на экзогенный сигнал — феномен широко распространенный в природе. Например, индукция цитохрома Р-450 в ответ на проникновение в клетку чужеродного химического соединения — нормальный физиологический акт для организмов всех уровней организации — от бактерий до человека. Индукция цитохрома не является чем-то уникальным. Адаптивные изменения генной активности имеют место как в нормальных условиях, так и при экстремальных воздействиях, подобных тепловым шокам. Отметим, что физиологические изменения генной активности происходят не при непосредственном действии внешнего агента на хромосому, а, как правило, опосредованно, через систему эффекторов. Можно постулировать и существование серии субпрограмм, обеспечивающих адекват-



Влияние факторов внешней среды на клетку.

ватное комплексное изменение генной активности в ответ на действие определенного класса факторов.

К наследуемым изменениям программы относятся факты эпигеномной и мутационной изменчивости. Оба типа репрограммирования, по-видимому, могут происходить как при непосредственном воздействии внешнего фактора на геном, так и опосредованно, через систему эффекторов. В случае эпигеномной изменчивости в онтогенезе роль эффекторов бесспорна. Поразительная сложность и закономерность морфогенезов, представляющих собой результат взаимодействия внешней среды (понимая здесь внешнюю среду широко, как клеточное окружение) и программы развития данной клетки, говорит о существовании однозначных и адекватных индуцированных эпигеномных изменений.

К сожалению, пока нельзя ничего конкретного сказать о молекулярных механизмах эпигеномной изменчивости. По-видимому, феномены, объединенные сейчас термином «эпигеномная изменчивость» весьма разнородны. Обычно явления активации/инактивации генов связаны с процессом гетерохроматизации, реализующимся, вероятно, на над-нуклеосомном уровне организации хромосомы [25], но ведет ли гетерохроматизация к инактивации гена, или, наоборот, инактивация предшествует гетерохроматизации — не известно.

В последнее время стало ясно, что по крайней мере иногда процессы дифференциации клеток, всегда считавшиеся типичным отражением эпигеномной изменчивости, протекают с изменением первичной струк-

туры ДНК. Для ряда видов показано различное количество повторов в разных тканях [62, 68]. Значительные перестройки генома, связанные с потерей части ДНК, происходят и при дифференцировке плазматических клеток [72]. Выше рассмотрен один из случаев эпигеномной изменчивости — влияние температуры на эффект положения. Оказалось, что усиление мозаичности коррелирует с возрастанием доли сат-ДНК на 20% в геноме мух, выросших при 16°C [27, 29]. Необходимы ли изменения первичной последовательности для всех случаев эпигеномных изменений, неизвестно.

В некоторых случаях трудно отличить эпигеномные изменения от мутаций. Классическим критерием эпигеномного состояния считается высокая частота реверсий [4, 48], однако по этому критерию потеря устойчивости к метотрексату при утрате клеткой *dms* выглядит как эпигеномное изменение, а по молекулярному механизму является «геномным», т. е. мутацией.

Говоря о адаптивности наследуемых форм изменчивости, подчеркиваем, что такое свойство эпигеномной изменчивости, как возможность однонаправленных изменений под действием определенного фактора может быть широко распространено в природе. Особое значение оно может иметь для агамных форм, так как преобладание агамного размножения делает маловероятным приспособление популяции к варьирующим условиям среды путем отбора генотипически различных форм [21].

В заключение отметим адаптивный феномен экстракопирования отдельных генов или комплексов генов. Убедительное свидетельство его распространения не только мультипликация генов ДГФР, но и нередко выявляемые в клетках различных опухолей *dms* и HSR. Принципиально сходные случаи размножения генов хорошо известны. Это магнификация рДНК при изменении генотипической среды (дефицит рДНК у *D. melanogaster* линии *hobbed*) и амплификация рДНК в оогенезе. Возможность мультипликации структурных генов значительно усложняет представления о структурно-функциональной организации генома эукариот и, в частности, представления о конкретных механизмах ответа клеток на воздействие факторов внешней среды.

Summary

The article describes different events of chromosome reaction on environmental actions as shorttime reversible alterations of gene activity, cases of epigenetical reaction and mutagenesis. The general problem is discussed concerning specificity of chromosomal reaction. The genetics and chromosomal mechanism had been created for adoptive replies. The is very sensitive contribution of instability of genome and intercellular polymorphism in this specific reply.

УКАЗАТЕЛЬ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беляев Д. К., Рувинский А. О., Бородин П. М. Наследование альтернативных состояний гена *Fused* у мышей. — Генетика, 1979, т. 15, № 11, с. 2041—2062.
2. Беляев Д. К., Рувинский А. О., Трут Л. Н. Значение наследуемой активации и инактивации генов в доместикации животных. — Генетика, 1979, т. 15, № 11, с. 2033—2040.
3. Бирштейн В. Я. Гетерохроматин, мозаичный эффект положения гена у *Drosophila* и проблема гетерохроматинизации хромосом. — Успехи соврем. биол., 1976, т. 81, № 2, с. 225—243.
4. Вахтин Ю. Б. Генетика соматических клеток. Л., 1974. 258 с.
5. Волобуев В. Т. В-хромосомы млекопитающих. — Успехи соврем. биол., 1978, т. 86, № 3, с. 387—398.
6. Гинтер Е. К., Булыжников В. Э. Детерминация имагинальных дисков дрозофилы и ее генетическая регуляция. — В кн.: Дрозофила в экспериментальной генетике. Новосибирск, 1978, с. 4—41.

7. Гриф В. Г., Валович Е. М. Механизм выявления гетерохроматиновых сегментов хромосом растений при низких температурах. — ДАН СССР, 1978, т. 243 № 2, с. 493—496.
8. Дубинин Н. П., Пашин Ю. В. Мутагенез и окружающая среда. М., 1978 243 с.
9. Жернермон Ж. Проблема длительных модификаций у простейших. — Журн. общей биол., 1970, т. 31, № 6, с. 661—676.
10. Ильинская Н. Б., Максимова Ф. Л. Изменение политенных хромосом слюнных желез личинок *Chironomus plumosus* в разные месяцы года. — Цитология, 1976, т. 18, № 7, с. 847—851.
11. Инге-Вечтомов С. Г. Неоднозначность матричных процессов как фактор адаптации. — В кн.: Системы надежности клетки. Киев, 1977, с. 75—85.
12. Календо Г. С., Винская Н. П. Надежность систем защиты и адаптационный комплекс реакций на уровне клеточной популяции. Киев, 1977, с. 104—118.
13. Кауров Б. А., Иванов В. И., Мглинец В. А. Влияние температуры на проявление гомеозисных мутаций у дрозофилы. Сообщ. I. Гомеозисная трансформация у мутантов *proboscipedia*. — Генетика, 1975, т. 11, № 9, с. 91—97.
14. Криппа-Франчески Т. Длительные модификации. — Журн. общей биол., 1970, т. 31, № 5, с. 572—577.
15. Левин В. Л., Самойлова К. А. Современное состояние проблемы фотобиологии. — В кн.: Фотобиология животной клетки. Л., 1979, с. 95—110.
16. Лобашев М. Е. Физиологическая гипотеза мутационного процесса. — В кн.: Исследования по генетике. Л., 1976, № 6, с. 3—14.
17. Мглинец В. А. Гомеозисные мутации у дрозофилы и проблемы генетики развития. — В кн.: Дрозофила в экспериментальной генетике. Новосибирск, 1978, с. 41—72.
18. Оделов Ю. М. Проблемы молекулярной генетики. Л., 1977. 206 с.
19. Осипов Д. В. Анализ наследственных механизмов, определяющих теплоустойчивость *Paramecium caudatum*. — Генетика, 1966, т. 2, № 1, с. 119—131.
20. Полужикова Е. В., Митрофанов В. Г., Бакулина Э. Д. и др. Действие теплового шока на puffing хромосом слюнных желез *D. virilis* Stert. в различных условиях культивирования. — Генетика, 1978, т. 14, № 6, с. 1005—1015.
21. Полянский Ю. И. Формы фенотипической изменчивости простейших, их адаптивное значение и биологические механизмы. — В кн.: Вопросы экологии простейших. Л., 1978, с. 5—25.
22. Раджабали С. И. С-гетерохроматин в эволюции кариотипа млекопитающих. — ДАН СССР, 1977, т. 234, № 4, с. 935—938.
23. Светлов П. Г. Физиология (механика) развития. Л., 1978. 262 с.
24. Светлов П. Г., Корсакова Г. Ф. Критические периоды в эмбриогенезе мутации *Paramecium caudatum* и их морфологическая характеристика. — Цитология, 1970, т. 12, № 5, с. 642—653.
25. Смирнов А. Ф., Смарагдов М. Г. Характеристика и молекулярная организация гетерохроматина дрозофилы. — В кн.: Исследования по генетике. Л., 1979, № 8, с. 30—39.
26. Токин Н. Б. Проблемы радиационной цитологии. Л., 1974. 218 с.
27. Хосин Р. Б., Башкиров В. И. Влияние направления скрещиваний, дополнительного гетерохроматина и генома родителя на температуры их развития на эффект полойности *gene white* у потомства *D. melanogaster*. — Генетика, 1979, т. 15, № 2, с. 261—272.
28. Хромов-Борисов Н. Н. Мутации как ошибки программирования. — В кн.: Исследования по генетике. Л., 1976, № 7, с. 20—31.
29. Чернышев А. И., Лейбович Б. А., Богданова Е. С. Биохимическое определение количества гетерохроматина у *D. melanogaster*. — Тр. XIV Международного конгресса. Тезисы докл., ч. I. М., 1974, с. 61.
30. Abelson J. A. RNA processing and intervening sequence problem. — Ann. Rev. Biochem., 1979, v. 48, p. 1035—1069.
31. Ananiev E. V., Gvozdev V. A. Changed pattern of transcription and replication in polytene chromosomes of *Drosophila melanogaster* resulting from eu-heterochromatin rearrangement. — Chromosoma, 1974, v. 75, p. 173—191.
32. Ashburner M. Patterns of puffing activity in the salivary gland chromosomes of *Drosophila*. V. Responses to environmental treatment. — Chromosoma, 1970, v. 31, p. 356—376.
33. Ashburner M., Bonner J. J. The induction of gene activity in *Drosophila* by heat shock. — Gen., 1974, v. 17, n. 2, p. 241—254.
34. Baker W. F. A clonal system of differential gene activity in *Drosophila* by heat-shock. — Gen., 1967, v. 16, N 1, p. 1—17.
35. Baumann I. W. Heterochromatin and DNS-replication bei *Scilla sibirica*. — Exp. cell res., 1971, v. 64, p. 323—330.
36. Belitskii I. S., Zhimulev I. E. RNA synthesis in the *Drosophila melanogaster* pupa. — Cell differentiation, 1976, v. 1, p. 415—427.

37. Berg K. (Ed.). Genetic damage in man caused by environmental agents. N. Y., 1979.
38. Biedler J. L., Spengler B. A. A novel chromosome abnormality in human neuroblastoma and antifolate-resistant Chinese hamster cell lines in culture. — J. Nat. Cancer Inst., 1976, v. 57, p. 683—695.
39. Bukhari A. G., Shapiro, Adhya S. L. DNA insertion elements, plasmids and episomes. N. Y., 1979. 782 p.
40. Cavalier-Smith T. Nuclear volume control by nucleoskeletal DNA, selection for cell volume and cell growth rate, and the solution of the DNA C-value paradox. — J. cell sci., 1978, v. 34, p. 247—278.
41. Danielli J. E., Di Berardino M. A. Nuclear transplantation (overview). — Int. rev. cytol., 1979, suppl. 9, p. 4—9.
42. Davidenkova E. F., Verlinskaja D. K., Mashkova M. N. Structural aberrations of the X-chromosome in man. — Human Genetics, 1978, N 3, p. 269—279.
43. Elgaard E. L., Clever U. RNA metabolism during puff induction in *Drosophila melanogaster*. — Chromosoma, 1971, v. 36, p. 60—78.
44. Evenson D. P., Witkin S. S., Harven E. de, Bendich A. Ultrastructure of partially decondensed human pspermatozoal chromatin. — J. ultrastr. res., 1978, v. 63, p. 178—187.
45. Evgeniev M., Levin A., Lozovskaya E. The analysis of temperature-sensitive (ts) mutation influencing the expression of heat shock inducible genes in *Drosophila melanogaster*. — Mol. Gen. Genet., 1979, v. 176, N 2, p. 275—280.
46. Goldschmidt E. The influence of temperature on synapsis in hybrid salivary gland. — Biol. Bull., 1952, v. 103, p. 67—73.
47. Greenleaf A. L., Plagens U., Jamrich M., Bautz E. K. F. RNA polymerase B (or II) in heat-induced puffs on *Drosophila* polytene chromosomes. — Chromosoma, 1978, v. 65, p. 127—136.
48. Hallstein J., McCann. Short-time tests for carcinogenesis and mutagenesis. — Mut. res., 1979, v. 65, p. 133—226.
49. Hartmann-Goldstein J. R. On the relationship between heterochromatization and variegation in *Drosophila*, with special reference to temperature-sensitive periods. — Genet. Res., 1967, v. 10, p. 143—159.
50. Hartmann-Goldstein J., Goldstein D. J. Effect of temperature on morphology and DNA content of polytene chromosomes in *Drosophila*. — Chromosoma, 1979, v. 71, p. 333—346.
51. Harvey A. W., Hewitt G. M. B-chromosomes slow development in a grasshopper. — Heredity, 1979, v. 42, N 3, p. 397—401.
52. Jollos V. Dauermodifikationen und Mutationen bei Protozoen. — Arch. Protistenk., 1934, Bd. 83, S. 197—219.
53. Jones R. N. B-chromosome systems in flowering plants and animal species. — Int. Rev. Cytol., 1975, v. 40, p. 1—100.
54. Khesin R. B., Leibovitch B. A. Influence of deficiency of the histone gene-containing 38b—40 regions on X-chromosome template activity and the white gene position effect variegation in *Drosophila melanogaster*. — Mol. Gen. Genet., 1978, v. 162, N 3, p. 323—328.
55. Krone W., Wolf U. Chromosome variation and gene action. — Hereditas, 1977, v. 86, N 1, p. 31—36.
56. Levan A., Levan G., Mitelman F. Chromosomes and cancer. — Hereditas, 1977, v. 86, N 1, p. 15—30.
57. Levan A., Levan G. Have double minutes functioning centromeres. — Hereditas, v. 1978, v. 88, N 1, p. 81—92.
58. Levan G., Mandahl N., Bengtson B. O. Experimental elimination and recovery of double minute chromosomes in malignant cell populations. — Hereditas, 1977, v. 86, N 1, p. 75—90.
59. Levan A., Levan G., Mandahl N. A new chromosome type replacing double minutes in mouse tumor. — Cytogen. Cell Genet., v. 20, N 1—6, p. 12—23.
60. McKenzie S. L., Henikoff S., Meselson M. Localization of RNA from heat-induced polysomes at puff sites in *Drosophila melanogaster*. — PNAS, 1975, v. 72, N 3, p. 1117—1121.
61. Morata G., Ripoll R. Minutes: mutants of *Drosophila* autonomously affecting cell division rate. — Dev. Biol., 1975, v. 42, p. 211—221.
62. Nagl W. Search for the molecular basis of diversification in phylogenesis and ontogenesis. — Pl. syst. evol., 1979, suppl. 2, p. 3—25.
63. Nanney D. L. Epigenetic control systems. — PNAS, 1958, v. 44, N 5, p. 712—717.
64. Nebert D. W. Multiple forms of inducible drug-metabolizing enzymes: a reasonable mechanism by which any organism can cope with adversity. — Mol. Cell Biochem., 1979, v. 27, N 1, p. 27—46.
65. Nebert D. W., Levitt R. C., Pelkonen O. Genetic variation in metabolism of chemical cancerogenes associated with susceptibility to tumorigenesis. —

- In: *Cancerogenes: Identification and mechanisms of action*. N. J., 1979, p. 157—185.
66. Nunberg J. H., Kaufman R. J., Schimke R. T. et al. Amplified dihydrofolate reductase genes are localized to a homogeneously staining regions of a single chromosome in a methotrexate-resistant Chinese hamster ovary cell line.— *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1978, v. 75, N 1, 5553—5556.
 67. Poelmann R. E., Vermeij-Keers C. Cell different degeneration in the mouse embryo: A prerequisite for normal development.— In: *Progress in differentiation research*. Amsterdam, 1976, p. 93—102.
 68. Prasad N., Cutler R. C. Percent satellite DNA as a function of tissue and age of mice.— *BBA*, 1976, v. 418, N 1, p. 1—23.
 69. Rubin C. M., Hogness D. S. Effect of heat shock on the synthesis of low molecular weight RNAs in *Drosophila*: accumulation of a novel form of 5S RNA.— *Cell*, 1975, v. 6, p. 207—213.
 70. Rudak E., Callan H. G. Differential staining and chromatin packing of the mitotic chromosomes of the newt *Triturus cristatus*.— *Chromosoma*, 1976, v. 56, p. 349—362.
 71. Rutishauser A. Chromosome distribution and spontaneous chromosome breakage in *Trillium grandiflorum*.— *Heredity*, 1956, v. 10, p. 367—407.
 72. Sakano H., Huppi K., Heinrich G., Tonegawa S. Sequences at the somatic recombination sites of immunoglobulin light-chain genes.— *Nature*, 1979, v. 280, N 5720, p. 288—294.
 73. Schier W., Friend C. Breakage of DNA in folded genomes by inducers of differentiation in Friend erythroleukemic cells.— *Cancer. Res.*, 1978, v. 38, N 3, p. 841—849.
 74. Schimke R. T., Kaufman R. J., Alt F. W., Kellems R. F. Gene amplification and drug resistance in cultured murine cells.— *Science*, 1978, v. 202, p. 1051—1055.
 75. Schimke R. T., Kaufman R. J., Nunberg J. H., Duna S. L. Studies on the amplification of dehydrofolate reductase genes in methotrexateresistant cultured mouse cells.— *Cold. Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, v. 43, part II, p. 1297—1304.
 76. Seglen P. O. Differones.— *Norwegian J. of zoology*, 1976, v. 22, suppl. 1, p. 1—131.
 77. Simpson P. Parameters of cell competition in the compartments of the wing disc of *Drosophila*.— *Dev. Biol.*, 1979, v. 68, N 1, p. 182—193.
 78. Spotted J. B. Position effect variegation.— In: *Genet. biol. of Drosophila*. N. Y., 1976, v. 1c, 292 p.
 79. Tanaka R. Deheterochromatinization of the chromosomes in *Spiranthes sinensis*.— *Jap. J. Genet.*, 1969, v. 44, p. 291—296.
 80. Vinnikova Y. Allocyclic regions and banding patterns in the chromosomes of *Marina*.— *Heredity*, 1975, v. 81, p. 47—54.
 81. Watanabe G. B., Boothroyd E. R. Studies in different reactivity. I. The rate of change of differentiation in the somatic chromosomes of *Trillium erectum*.— *Can. J. Res.*, 1941, ser. C, v. 19, N 10, p. 400—412.
 82. Wong Y. C., Elgin S. C. The chromatin structure of specific genes: H. Changes in chromatin structure during gene activity.— *Cell*, 1979, v. 16, N 4, p. 807—814.

ВЛИЯНИЕ НА МЕТАМОРФОЗ И ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ DROSOPHILA MELANOGASTER ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В СИНТЕЗЕ СТЕРИНОВ У SACCHAROMYCES CEREVISIAE В ДВУВИДОВОЙ СИСТЕМЕ: ПРОДУЦЕНТ — ПОТРЕБИТЕЛЬ

Е. М. ЛУЧНИКОВА, С. Г. ИНГЕ-ВЕЧТОМОВ,
А. И. ИБРАГИМОВ, А. Б. ЛЕВЧЕНКО

На основе хорошо изученных в генетическом отношении видов *Drosophila melanogaster* и *Saccharomyces cerevisiae* была разработана модельно-генетическая система, удобная для изучения биохимических механизмов коадaptации видов в биоценозах, а также последствий для